



①9 **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENTAMT**

⑬ **Off nl ungungsschrift**  
⑩ **DE 196 54 211 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>6</sup>:  
**G 02 B 21/00**  
G 02 B 21/06  
// G 02 B 21/16

②1 Aktenzeichen: 196 54 211.1  
②2 Anmeldetag: 24. 12. 96  
④3 Offenlegungstag: 13. 8. 98

**DE 196 54 211 A 1**

⑦1 Anmelder:  
Leica Lasertechnik GmbH, 69120 Heidelberg, DE  
  
⑦4 Vertreter:  
Ullrich & Naumann, 69115 Heidelberg

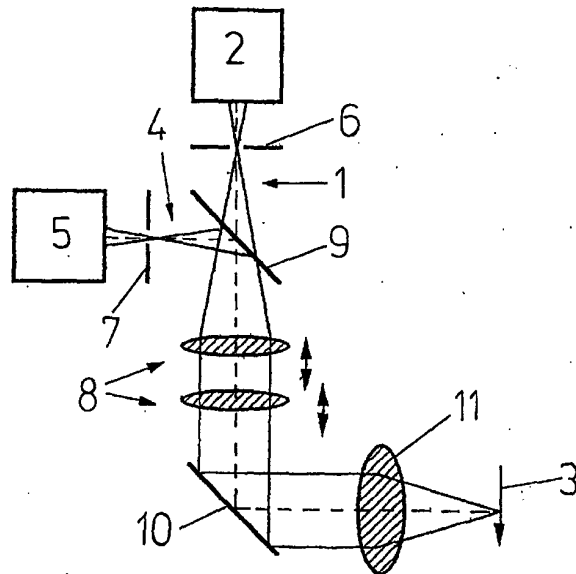
⑦2 Erfinder:  
Engelhardt, Johann, Dr., 76669 Bad Schönborn, DE;  
Ihrig, Christiane, Dr., 68219 Mannheim, DE  
  
⑤6 Entgegenhaltungen:  
DE 44 29 416 A1  
DE 38 04 642 A1

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops

⑤7 Eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang (1) zwischen Lichtquelle (2) und Objekt (3), als auch im Detektionsstrahlengang (4) zwischen Detektor (5) und Objekt (3) jeweils eine Lochblende - Beleuchtungslochblende (6) bzw. Detektionslochblende (7) - angeordnet ist, ist zur kontinuierlichen Tiefendiskrimination sowie zur optimalen Anpassung an Objektive, Wellenlängen und Ausbeute derart ausgestaltet und weitergebildet, daß mindestens zwischen einer der Lochblenden (6, 7) und dem Objekt (3) eine Varioptik (8) zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.



**DE 196 54 211 A 1**

Die Erfindung betrifft eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang zwischen Lichtquelle und Objekt als auch im Detektionsstrahlengang zwischen Detektor und Objekt jeweils eine Lochblende – Beleuchtungslochblende bzw. Detektionslochblende – angeordnet ist.

Optische Anordnungen der hier in Rede stehenden Art sind bereits seit langem aus der Praxis bekannt. Lediglich beispielhaft wird hierzu verwiesen auf Johann Engelhardt und Werner Knebel in Physik in unserer Zeit, 24. Jahrg. 1993, Nr. 2 "Konfokale Laserscanning-Mikroskopie", auf J. B. Pawley, in "Handbook of Biological Confocal Microscopy", 2nd Edition, S. 581 ff. sowie auf EP 0 280 375 B1 (Brakenhoff).

Insbesondere im konfokalen Rastermikroskop ist es erforderlich, die Durchmesser der konfokalen Lochblenden an die unterschiedlichen Abbildungsmaßstäbe für verschiedene Mikroskopobjektive anzupassen. Wird die Lochblende zu groß gewählt, so reduziert sich die Auflösung entlang der optischen Achse. Bei zu klein gewählter Lochblende ist dagegen die Lichtausbeute reduziert, was insbesondere bei Fluoreszenzanwendungen nicht tolerierbar ist. Je nach optischer Anordnung haben herkömmliche Lochblenden einen Durchmesser im Bereich zwischen 10 µm bis 10 mm.

Aus der Praxis ist es ebenfalls bereits bekannt, bei sehr langen Strahlengängen verstellbare Irisblenden zu verwenden, wobei diese Irisblenden motorisiert sein können. Der minimal nutzbare Durchmesser ist dabei jedoch auf ca. 0,1 mm begrenzt.

Aus mechanisch-geometrischen Gründen sowie aus Gründen der mechanischen Stabilität und somit auch Justierstabilität sind bei der Realisierung konfokaler Optiken kompakte Bauweisen den langen Strahlengängen vorzuziehen. Bei kurzen Strahlengängen werden Lochblenden mit Durchmessern zwischen 5 und 500 µm verwendet. Die Variation des Lochdurchmessers kann durch Anordnung mehrerer Lochblenden mit jeweils festem Durchmesser erfolgen, die auf einer Scheibe justiert bzw. auf einem Rad angeordnet sind. Entsprechend läßt sich der Lochdurchmesser in diskreten Schritten verändern. Dies ist allerdings wegen der kleinen Lochdurchmesser und der grundsätzlich erforderlichen Positioniergenauigkeit äußerst problematisch, da eine solche Anordnung extrem justieranfällig ist.

Des weiteren ist aus der Praxis auch bereits eine kontinuierlich einstellbare Lochblende bekannt. Hier läßt sich mit Hilfe einer Motorisierung zweier Paare rechtwinklig zueinander angeordneter feiner Schneiden eine rautenförmige, kontinuierlich variable Öffnung zwischen 20 und 500 µm realisieren. Kleinere Durchmesser der Blendenöffnung sind aufgrund der mikromechanischen Anforderungen nach diesem bekannten Prinzip jedoch nicht realisierbar.

Der Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, eine optische Anordnung im Strahlengang des Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, derart auszugestalten und weiterzubilden, daß eine kontinuierliche Tiefendiskrimination sowie eine optimale Anpassung an Objektive, Wellenlängen und Ausbeute mit einfachen Mitteln bei kleinstmöglicher Bauweise möglich ist.

Die erfindungsgemäße optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, löst die voranstehende Aufgabe durch die Merkmale des Patentanspruches 1. Danach ist eine optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops der hier in Rede stehenden Art derart ausgestaltet und weitergebildet, daß mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem

Objekt eine Variooptik zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.

Erfindungsgemäß ist erkannt worden, daß man die Vorteile einer kompakten optischen Anordnung nutzen und dabei Nachteile einer nicht rotationssymmetrischen Rechteckblende mit begrenztem Minimaldurchmesser vermeiden kann, indem man nämlich mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem Objekt eine Variooptik zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorsieht. Die Variooptik dient zur Variation des optisch wirksamen bzw. scheinbaren Lochblendendurchmessers, wobei durch die Variation des Vergrößerungsfaktors bei fester Fokallage kontinuierlich die gewünschte Tiefendiskrimination einstellbar ist und eine optimale Anpassung an Objekte, Wellenlänge und Ausbeute erfolgen kann.

Wie bereits zuvor erwähnt, ist mindestens zwischen einer der Lochblenden und dem Objekt eine Variooptik vorgesehen, wobei die Variooptik nur für die Lichtquelle, nur für den Detektor oder sowohl für die Lichtquelle als auch für den Detektor wirksam sein kann. Im Rahmen der zuerst genannten Ausgestaltung könnte die Variooptik zwischen der Beleuchtungslochblende und einem Strahlteiler angeordnet sein. Für den Fall, daß die Variooptik nur für den Detektor wirksam ist, könnte die Variooptik zwischen der Detektionslochblende und dem Strahlteiler angeordnet sein. Mit anderen Worten könnte man die Variooptik einerseits der Beleuchtungslochblende und andererseits der Detektionslochblende zum Objekt hin bzw. zum Strahlteiler hin nachordnen.

Sofern die Variooptik sowohl für die Lichtquelle als auch für den Detektor wirksam sein soll, könnte man die Variooptik zwischen dem Strahlteiler und dem Objekt bzw. einem davor angeordneten Objekt und/oder einem Scanner anordnen. Jedenfalls ist im Rahmen einer solchen Ausgestaltung lediglich eine einzige Variooptik erforderlich, die nämlich in dem gemeinsamen Beleuchtungsstrahlengang zwischen Lichtquelle und Objekt einerseits und zwischen Detektor und Objekt andererseits angeordnet ist.

Wie bereits zuvor erwähnt, kann im Strahlengang vor dem Objekt eine Anordnung von Objektiven vorgesehen sein. Wiederum vor diesen Objektiven könnte ein Scanner in herkömmlicher Weise angeordnet sein.

In besonders vorteilhafter Weise kann es sich bei der Variooptik um eine vorzugsweise motorisierte Zoomoptik handeln. Diese kann wiederum als übliche Zoomoptik ausgeführt sein, wie sie bspw. in Videokameras Verwendung findet. Jedenfalls ist es von ganz besonderem Vorteil, wenn sich bei der Zoomoptik bei fester Fokalebene die Vergrößerung oder bei fester Vergrößerung die Fokalebene variieren läßt, so daß eine optimale Variationsmöglichkeit gegeben ist.

Die Variooptik kann in der Weise ausgestaltet sein, daß restliche Farblängsfehler anderer optischer Komponenten des Rastermikroskops ausgeglichen werden.

Der zweite Effekt erlaubt es zusätzlich, daß die Fokalebene durch optische Mittel variiert werden kann, ohne daß das Objekt relativ zum Mikroskopobjektiv bewegt werden muß. Der sich daraus ergebene Vorteil liegt darin, daß der dynamische Einfluß durch die Viskosität des Öls bei der Immersionsmikroskopie keinen Einfluß auf die Fokussierung oder bei Abbildungen entlang der optischen Achse hat.

Ein ganz großer Vorteil der erfindungsgemäßen Anordnung liegt des weiteren darin, daß sowohl die Beleuchtungslochblende als auch die Detektionslochblende als Lochblende mit festem Durchmesser ausgeführt sein kann, so daß hier keine Mikromechanik erforderlich ist. Vorzugsweise sind die Lochblenden mit rundem Durchgang ausgeführt, um nämlich den negativen Effekt der aus der Praxis bekann-

ten rautenförmigen variablen Lochblende ausschließen zu können. In Verbindung mit der Variooptik läßt sich der wirksame Durchmesser bis hin zur Beugungsgrenze ohne feinmechanisch aufwendige Techniken und ohne weiterreichende Begrenzungen erreichen nämlich lediglich unter Verwendung von Lochblenden mit rundem, festem Durchmesser.

Hinsichtlich einer alternativen Ausgestaltung der Lochblende ist es denkbar, diese durch das Ende einer Lichtleitfaser darzustellen, wobei eine solche Darstellung sowohl für die Beleuchtungslochblende als auch für die Detektionslochblende möglich ist. Die Lichtleitfaser könnte dabei als Monomode-Faser ausgeführt sein.

Die Beleuchtungslochblende könnte unmittelbar durch eine hinreichend kleine Lichtquelle dargestellt sein, wobei sich hier eine Kurzbogenlampe ganz besonders eignet.

Die Detektionslochblende könnte alternativ durch einen hinreichend kleinen Detektor dargestellt sein, wobei hier ein ein- oder mehrdimensionales Array in Frage kommt.

Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten, die Lehre der vorliegenden Erfindung in vorteilhafter Weise auszugestalten und weiterzubilden. Dazu ist einerseits auf die dem Patentanspruch 1 nachgeordneten Ansprüche, andererseits auf die nachfolgende Erläuterung eines Ausführungsbeispiels der Erfindung anhand der Zeichnung zu verweisen. In Verbindung mit der Erläuterung des bevorzugten Ausführungsbeispiels der Erfindung werden auch im allgemeinen bevorzugte Ausgestaltungen und Weiterbildungen der Lehre erläutert. In der Zeichnung zeigt die Figur in einer schematischen Darstellung ein Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen optischen Anordnung im Strahlengang eines konfokalen Rastermikroskops, wobei das Rastermikroskop der Einfachheit halber hier nicht dargestellt ist.

Die einzige Figur zeigt eine optische Anordnung im Strahlengang eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang 1 zwischen Lichtquelle 2 und Objekt 3 als auch im Detektionsstrahlengang 4 zwischen Detektor 5 und Objekt 3 jeweils eine Lochblende – Beleuchtungslochblende 6 bzw. Detektionslochblende 7 – angeordnet ist.

Erfindungsgemäß ist zwischen den Lochblenden 6, 7 und dem Objekt 3 eine Variooptik 8 zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen. Diese Variooptik 8 ist entsprechend der hier konkret gewählten Anordnung sowohl für die Lichtquelle 2 als auch für den Detektor 5 wirksam, ist nämlich zwischen einem Strahlteiler 9 und dem Objekt 3 angeordnet. Im konkreten ist der Variooptik 8 ein Scanner 10 – hier vereinfacht als Scan- und Umlenkspiegel dargestellt – und eine Anordnung von Objektiven 11 nachgeordnet.

Bei der Variooptik 8 handelt es sich um eine motorisierte Zoomoptik, wie sie in Videokameras Verwendung findet. Dabei läßt sich auf fester Fokalebene die Vergrößerung oder bei fester Vergrößerung die Fokalebene variieren.

Sowohl die Beleuchtungslochblende 6 als auch die Detektionslochblende 7 ist als runde Lochblende mit festem Durchmesser ausgeführt, wobei sich die Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers ausschließlich durch die Variooptik 8 realisieren läßt.

Die Variooptik 8 dient zur Einstellung der Fokuslage oder auch zur kontinuierlichen Fokusvariation, um Bilder entlang der optischen Achse zu erzeugen. Hinsichtlich weiterer alternativer Ausgestaltungen der Lochblenden wird zur Vermeidung von Wiederholungen auf den allgemeinen Teil der Beschreibung verwiesen.

# Patentansprüche

1. Optische Anordnung im Strahlengang eines Mikroskops, insbesondere eines konfokalen Rastermikroskops, wobei sowohl im Beleuchtungsstrahlengang (1) zwischen Lichtquelle (2) und Objekt (3), als auch im Detektionsstrahlengang (4) zwischen Detektor (5) und Objekt (3) jeweils eine Lochblende – Beleuchtungslochblende (6) bzw. Detektionslochblende (7) – angeordnet ist, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens zwischen einer der Lochblenden (6, 7) und dem Objekt (3) eine Variooptik (8) zur Variation des optisch wirksamen Lochblendendurchmessers vorgesehen ist.
2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) nur für die Lichtquelle (2) wirksam ist.
3. Anordnung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) zwischen der Beleuchtungslochblende (6) und einem Strahlteiler (9) angeordnet ist.
4. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) nur für den Detektor (5) wirksam ist.
5. Anordnung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) zwischen der Detektionslochblende (7) und einem Strahlteiler (9) angeordnet ist.
6. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) sowohl für die Lichtquelle (2) als auch für den Detektor (5) wirksam ist.
7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik (8) zwischen einem Strahlteiler (9) und dem Objekt (3) angeordnet ist.
8. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß im Beleuchtungsstrahlengang (1) vor dem Objekt (3) gegebenenfalls ein Scanner (10) und eine Anordnung von Objektiven (11) vorgesehen sind.
9. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Variooptik derart ausgestaltet ist, daß restliche Farblängsfehler anderer optischer Komponenten des Mikroskops ausgeglichen werden.
10. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei der Variooptik (8) um eine vorzugsweise motorisierte Zoomoptik handelt.
11. Anordnung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei der Zoomoptik um eine in Videokameras übliche Zoomoptik handelt.
12. Anordnung nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Zoomoptik Mittel zum Variieren der Vergrößerung bei fester Fokalebene oder der Fokalebene bei fester Vergrößerung vorgesehen sind.
13. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungslochblende (6) als runde Lochblende mit festem Durchmesser ausgeführt ist.
14. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionslochblende (7) als runde Lochblende mit festem Durchmesser ausgeführt ist.
15. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Lochblende durch das Ende einer Lichtleitfaser darstellbar ist.
16. Anordnung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtleitfaser als Monomode-Faser ausgeführt ist.

17. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Beleuchtungslochblende (6) unmittelbar durch eine hinreichend kleine Lichtquelle (2) dargestellt ist.

18. Anordnung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Lichtquelle (2) als Kurzbogenlampe ausgeführt ist.

19. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß die Detektionslochblende (7) durch einen hinreichend kleinen Detektor (5) dargestellt ist.

20. Anordnung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß der Detektor (5) als ein- oder mehrdimensionales Array ausgeführt ist.

---

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

---

15

20

25

30

35

40

45

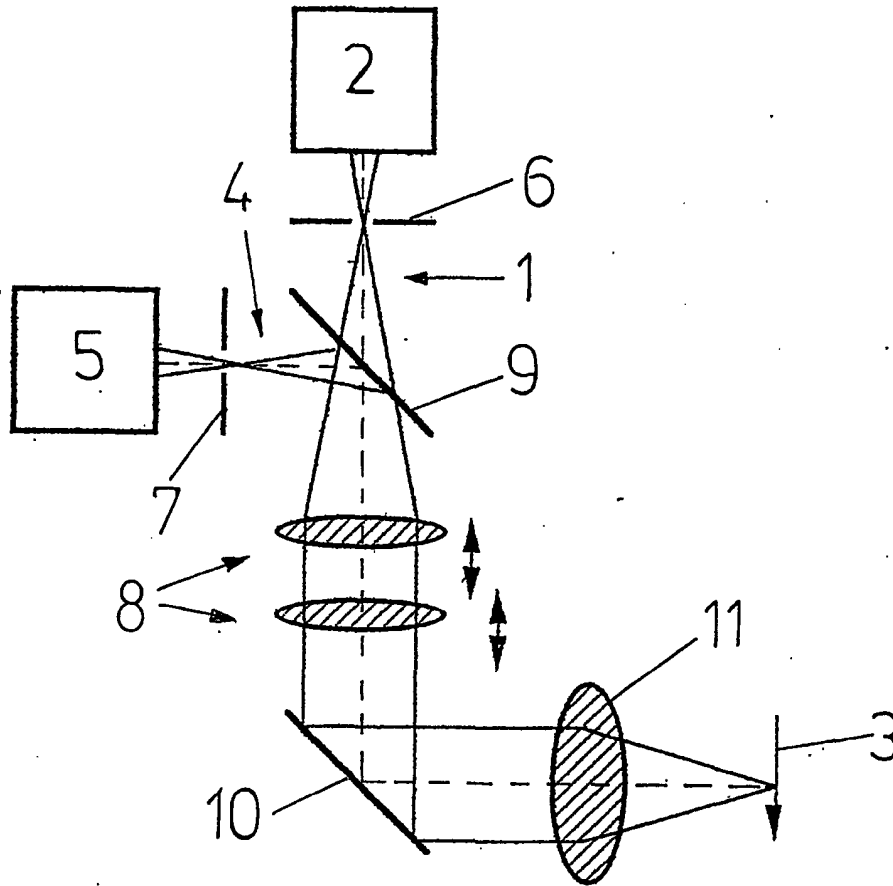
50

55

60

65

- Leerseite -



**Fig. 1**